UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Facoltà di Ingegneria

Tesi di Laurea in Ingegneria Biomedica

VALIDATION MASTER PLAN

Relatore: Dott. Andrea Bagno

Tutor: Dott. Aurora Vassanelli

Laureanda: Alice Braga

Anno Accademico 2009/2010

Indice

Abbreviazioni:

CD34+/CD45+	Cellule di differenziazione
DMSO	Dimetilsolfossido
EDTA	Acido etilendiamminotetracetico
GMP	Good Manufactoring Practice
HEPA	High Efficency Particulate Air filter
HLA	Human Leucocyte Antigens
IBDR	Registro italiano donatori midollo osseo
ITCBN	Italian cord blood network
IPA	Idrocarburi policiclici aromatici
NAT	Nucleic Acid Test
SIT	Sistema italiano di taratura
VMP	Validation Master Plan

CAPITOLO 1

Introduzione alla Banca del Cordone

Il tirocinio si è svolto presso la Banca del Cordone, situata all’interno dell'Azienda Ospedaliera di Verona, con lo scopo di sviluppare un nuovo modello per la convalida degli strumenti/materiali utilizzati all’interno di queste strutture.

La Banca è pubblica ed è autorizzata alla raccolta, alla conservazione e alla eventuale distribuzione di Unità di sangue di cordone ombelicale donate per uso allogenico non dedicato; in relazione a specifiche condizioni cliniche e con riferimento alla normativa vigente, la Banca può raccogliere e conservare Unità di sangue cordonale per uso allogenico dedicato (familiare) o per uso autologo.

Quest'istituzione per la raccolta del sangue cordonale è importante in quanto il sangue contenuto all'interno del cordone ombelicale rappresenta una fonte importantissima di cellule staminali emopoietiche che possono essere raccolte al momento del parto, senza nessuna interferenza con il normale svolgimento del parto e senza influire sulla salute della mamma e del neonato.

Le cellule staminali di cordone ombelicale sono destinate a pazienti affetti da malattie oncoematologiche, immunologiche o da altre malattie per le quali sussista l'indicazione per il trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche.

La donazione del sangue cordonale è volontaria, anonima, gratuita; la madre dona il sangue del funicolo del proprio figlio e questo sangue, una volta validato, viene messo a disposizione di qualsiasi persona ne abbia bisogno mediante l'inserimento dei dati di tipizzazione tissutale nel registro nazionale facente capo all'IBMDR/ITCBN, che a sua volta è collegato ai registri internazionali.

In casi selezionati è possibile che il sangue di cordone ombelicale venga raccolto e criopreservato per un ricevente identificato all'interno della famiglia, affetto da una patologia suscettibile di cura mediante trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche, oppure per lo stesso paziente per un trapianto autologo in tempi successivi: si tratta in questo di “donazione dedicata” di sangue di cordone ombelicale, come previsto dalla normativa vigente.

La raccolta del sangue avviene in diverse fasi e procedure allo scopo di garantire la correttezza delle modalità di raccolta e la possibilità di inviare in tempi adeguati l’Unità raccolta alla Banca del Sangue del Cordone:

- arruolamento della madre disponibile alla donazione ed esami di qualificazione biologica;
- raccolta dell’Unità di sangue cordonale (secondo criteri ostetrici e neonatologici di inclusione ed esclusione alla donazione);
- accettazione al SIT dell’Unità di sangue di cordone ombelicale donata;
- lavorazione e conservazione delle Unità di sangue di cordone ombelicale;
- qualificazione delle Unità di sangue di cordone ombelicale;
- gestione delle Unità non valide.

Quanto prima (entro le 48 ore), le Unità di sangue di cordone ombelicale vengono prese in carico dal personale della Banca del Sangue di Cordone Ombelicale, che provvede alla registrazione e all’attribuzione di un numero di identificazione, al pari di qualsiasi altra Unità di emocomponente. L’operatore della Banca valuta l’Unità, in particolare l’integrità della sacca, l’eventuale presenza di coaguli e il volume dell’Unità. Il volume, infatti, è un elemento critico per la validazione del sangue cordonale in quanto è strettamente correlato con il numero complessivo di cellule nucleate presenti all’interno dell’Unità stessa: al di sotto di un volume definito, il numero di cellule nucleate è sempre inferiore al limite minimo considerato sufficiente per l’utilizzo delle cellule staminali cordonali. In caso di non conformità lievi e sanabili, l’operatore provvede alla loro risoluzione previa autorizzazione del Medico responsabile o del biologo della Banca. Eventualmente, se l’Unità dovesse risultare non conforme e non sanabile, l’operatore provvede all’ accurata registrazione degli eventi e all’eliminazione fisica della sacca.

Dopo questa prima fase di ispezione e di identificazione dell'Unità, da ciascuna delle Unità di sangue cordonale raccolta deve essere prelevato parte del contenuto per effettuare i test previsti per la qualificazione biologica e i controlli di qualità.

I test che vengono effettuati sul campione sono:

- controllo microbiologico
- test clonogenici
- siero (per stoccaggio)
- estrazione DNA/RNA
- determinazione HLA
- conta cellulare
- vitalità cellulare
- controllo morfologico
- controllo immunofenotipico

Controllo microbiologico

Atto a documentare l'assenza di contaminazione microbica, con brodi di coltura per batteri aerobi e anaerobi. In caso di contaminazione l'Unità viene considerata non valida e viene eliminata.

Test di clonogenicità

Ha lo scopo di verificare, sia su campioni di materiale fresco che su campioni di materiale scongelato la clonogenicità del materiale non manipolato e la clonogenicità del materiale dopo la manipolazione. Vengono allestite colture a breve termine su terreno semisolido in piastre di coltura per le CFU-GM (Unità formanti colonie-monocito-granulocitarie). Le piastre vanno osservate per 14 giorni in microscopio a contrasto di fase.

Determinazione HLA

Sulle Unità di sangue cordonale deve essere eseguita la tipizzazione tissutale HLA, con metodiche di biologia molecolare.

Conta cellulare

Per ciascuna Unità di sangue cordonale deve essere determinato il numero di globuli bianchi, il numero di piastrine, l'emoglobina e l'ematocrito. Può essere effettuato utilizzando strumenti contaglobuli automatizzati oppure, limitatamente alla determinazione del numero di globuli bianchi, manualmente utilizzando la camera di Neubauer.

Vitalità cellulare

Va determinata sempre la vitalità delle cellule CD34+ e solo in casi definiti la vitalità delle cellule nucleate totali. Si utilizzano diverse colorazioni e il preparato va osservato con microscopio a fluorescenza.

Controllo morfologico

Per ciascuna Unità si allestisce una serie di almeno 4 vetrini, destinati in parte a controllo di qualità morfologico, dopo opportuna colorazione, e in parte ad archivio, non colorati.

Controllo immunofenotipico

Per identificare la composizione delle popolazione cellulari presenti. Si utilizzano anticorpi monoclonati diretti verso proteine leucocitarie di superficie note. Si testano sempre le seguenti popolazioni cellulari: CD45+, CD34+. Per la determinazione delle cellule totali vitali e delle CD34+ vitali si utilizza un colorante nucleare che rileva le cellule apoptotiche e morte che hanno perso l'integrità di membrana.

Dopo la fase di campionamento e di esecuzione dei test di validazione e qualificazione l'unità viene sottoposta a lavorazione, che prevede le seguenti fasi: centrifugazione, riduzione del volume (vengono eliminati il plasma e/o i globuli rossi), criopreservazione, conservazione.

Le unità lavorate vengono sottoposte a criopreservazione, utilizzando come agente crioprottettore DMSO al 10% v/v del volume finale, diluito in plasma autologo, eventualmente addizionato di soluzione fisiologica. La soluzione di criopreservazione viene aggiunta all'unità di sangue di cordone ombelicale e la sospensione cellulare così ottenuta viene quindi trasferita, in volume adeguato, in apposite sacche da

criopreservazione, che vengono saldate con il saldatore. Le sacche da criopreservazione saldate sono poste nel più breve tempo possibile nel designato alloggiamento del contenitore automatico a discesa programmata. Contestualmente all'unità di sangue di cordone ombelicale vengono criopreservate , con identiche condizioni, 3 aliquote da 1ml di sospensione cellulare e 3 aliquote di plasma cordonale da 2 ml, da utilizzarsi come controllo di qualità e campioni di accompagnamento all'unità conservata.

Al termine della fase di criopreservazione, le sacche contenenti le subunità di sangue cordonale ottenute dalla sacca originaria vengono poste in un contenitore criogenico (contenitori di azoto destinati alla conservazione a lungo termine, ad una temperatura compresa tra -196°C e -150°C, in vapori di azoto). Le Unità rimangono alloggiate presso questo contenitore fino alla validazione definitiva, che avviene dopo 6-12 mesi dalla donazione.

Data la natura delicata delle operazioni che si svolgono all'interno della Banca e la necessità di garantire la corretta manipolazione e conservazione del materiale biologico, sono necessarie delle procedure di convalida dettagliate per assicurare, in ogni passaggio, la validità dei processi in atto.

Materiali, strumenti, apparecchiature e sostanze che vengono a contatto o che possono influire sullo stato del materiale biologico devono essere progettati, valutati ed eventualmente sottoposti a manutenzione in modo da risultare idonei allo scopo cui sono destinati e non comportare rischi per i prodotti finali.

A questo scopo ed in particolare per queste strutture si utilizza il Validation Master Plan, esso contiene i principi generali cui conformarsi durante l'attività di convalida e la pianificazione di tutte le attività di convalida. Durante lo svolgimento del tirocinio sono stati trattati con maggiore riguardo i punti concernenti i piani di convalida di strumenti e materiali, mediante dei *report di convalida.*

CAPITOLO 2

Validation Master Plan

Le norme di buona fabbricazione (GMP) affermano: "…E´ requisito di buona fabbricazione individuare le attività di convalida necessarie a dimostrare il controllo degli aspetti critici delle particolari operazioni. I cambiamenti significativi apportati ad impianti, attrezzature e processi, suscettibili di influenzare la qualità del prodotto, dovrebbero essere convalidati. Una procedura di valutazione dei rischi dovrebbe essere utilizzata per determinare lo scopo e l'entità della convalida."

Il Validation Master Plan serve a garantire che tutte le apparecchiature, procedure, che possono influire sulla qualità o efficacia o integrità del prodotto, siano convalidate; esso contiene i principi generali cui conformarsi durante l'attività di convalida e la pianificazione di tutte le attività da svolgere.

Esso risulta particolarmente importante per le Banche dei tessuti, presso le quali i materiali biologici vengono a contatto con differenti strumenti, materiali e sono sottoposti a processi che devono garantire in ogni fase l'integrità del prodotto.

Secondo la normativa DE 2006/86/CE: "Tutte le attrezzature e i dispositivi tecnici critici devono essere identificati e convalidati, periodicamente ispezionati e preventivamente sottoposti a manutenzione conformemente alle istruzioni del fabbricante[...]. Le attrezzature nuove e riparate devono essere controllate al momento dell'installazione e **convalidate** prima dell'uso. I risultati dei controlli devono essere documentati".

2.1 CONVALIDA

La convalida è la procedura per ottenere l' evidenza documentata che un processo o un'apparecchiatura / strumento siano in grado di fornire una prestazione o un prodotto conforme alle specifiche e alle caratteristiche di qualità predeterminate *(norme, linee guida, requisiti, scelte aziendali, finalità produttive..).*

I tipi di convalida sono tre:

- Prospettica : ottimale e preferibile, eseguita prima di utilizzare un sistema;
- Concorrente: si raccolgono i dati del sistema durante il suo utilizzo;
- Retrospettiva: avviene dopo l'utilizzo del sistema, si acquisiscono i dati ottenuti durante un precedente utilizzo.

Per le attività di convalida e la loro pianificazione perciò si fa riferimento al VMP che contiene tutti i principi necessari:

- obiettivo e oggetto del piano di convalida
- sequenza delle attività di convalida
- descrizione dei locali, degli impianti, delle apparecchiature
- manutenzione delle apparecchiature
- descrizione del flusso di materiale e personale
- descrizione delle pulizie
- descrizione dei processi produttivi

Per ciascun apparecchio/strumento/attività le fasi di convalida e qualificazione sono identificabili in quattro passaggi principali:

1. **DQ design qualification**
2. **IQ installation qualification**
3. **OQ operational qualification**
4. **PQ performance qualification**

La ricerca del sistema da utilizzare all'interno di una struttura o di un laboratorio comincia con la descrizione di tutte le caratteristiche del sistema che il committente richiede al fornitore. Si tratta dell'insieme dei requisiti base, delle funzioni e delle attività che l'apparecchio deve possedere per garantire il corretto funzionamento per la prestazione desiderata. Solitamente la strumentazione si trova già in commercio, per cui si effettua una ricerca di mercato e si redige il *capitolato di fornitura.* La fase preliminare, denominata User Requirement Specification, consiste perciò in tutte le caratteristiche del sistema che l’utilizzatore committente richiede al fornitore, ovvero l’insieme dei requisiti, delle funzioni, delle attività che deve possedere per l’ottenimento della prestazione desiderata.

La prima fase della convalida (DQ) è rappresentata dal documento in cui il fornitore presenta la propria proposta per la realizzazione di un impianto o le caratteristiche tecniche dell'apparecchio, in base alle esigenze del committente, ovvero l’applicabilità delle richieste dell’utilizzatore. Costituisce quindi l'*offerta* dell'apparecchio/strumento da parte del fornitore; se rispondente ai requisiti, il committente ne emette l'*ordine d'acquisto.*

A tal proposito è importante ricordare che anche la fase di valutazione dei fornitori e approvvigionamento dei prodotti acquista valore rilevante prima e durante la fase di convalida. Le normative a cui poter fare riferimento sono: Direttiva europea 2004/23/CE, Direttiva europea 2006/87/CE, Direttiva europea 2006/17/CE.

La valutazione dei fornitori si basa principalmente su referenze di mercato, presenza del servizio di assistenza post vendita, adeguatezza e conformità legislativa dei prodotti, professionalità del personale, non conformità rilevate nelle forniture test.

Annualmente è consigliata una rivalutazione dei fornitori con lo stesso criterio utilizzato per la qualificazione iniziale, questa può essere riconfermata o eventualmente il fornitore viene eliminato dalla lista dei fornitori.

Vi sono casi particolari in cui non si possono scegliere autonomamente i propri fornitori ma si deve necessariamente usufruire di strutture già operative all'interno della stessa Azienda/Ospedale, si tratta quindi di fornitori obbligati, ad esempio per le Banche dei

Tessuti che fanno parte di un'azienda ospedaliera. In caso di gravi e ripetute mancanze è comunque opportuno rivalutare la possibilità di servirsi di un fornitore esterno.

Per quanto riguarda l'approvvigionamento dei prodotti, dopo aver individuato il fornitore, se ne verifica l'adeguatezza e la conformità (quantità, integrità confezioni, stato del prodotto, scadenza). Per le banche dei tessuti è soprattutto importante la rintracciabilità del prodotto, ovvero localizzare e individuare i tessuti in ogni fase, individuare il donatore e la Banca, i responsabili che effettuano l'applicazione dei tessuti sui riceventi, la reperibilità di tutti i dati relativi ai prodotti e materiali.

La seconda fase della convalida (IQ) consiste nella corretta installazione, essa verte su un insieme di verifiche volte a dare evidenza che il sistema oggetto di convalida è stato realizzato e installato correttamente secondo la documentazione progettuale e che esistono procedure in grado di assicurare il mantenimento dello stato di convalida nel tempo, compresa la taratura della strumentazione critica.

In questa fase del processo si verifica che:

1. il capitolato con le specifiche, l'offerta e l'ordine d'acquisto, i manuali operativi, i disegni as built e la documentazione del progetto siano disponibili;
2. le procedure operative standard (SOP) relative siano disponibili e consultabili;
3. il sistema sia installato in conformità alle specifiche di progetto, alle indicazioni del costruttore e alle normative di sicurezza;
4. le procedure di installazione e di collaudo abbiano dato esito positivo;
5. le parti di ricambio siano identificate;
6. che gli allarmi e i blocchi intervengono come da specifica;
7. i componenti e le utenze (elettricità, acqua, aria,vuoto,ecc..) del sistema siano identificate e sotto controllo e non siano presenti inquinanti a contatto col prodotto.

La fase di corretto funzionamento (OQ) si basa su un insieme di verifiche e test volti a documentare che il sistema operi in conformità a quanto prescritto nelle specifiche di progetto, in corrispondenza di condizioni di funzionamento prefissate.

E′ perciò necessario verificare che:

1. gli strumenti critici siano stati tarati secondo il programma di taratura previsto, ovvero si deve procedere alla taratura prima della convalida;
2. l'apparecchio o strumento e le sue componenti funzionino in assenza di carico e che i parametri operativi rientrino negli intervalli previsti, con le tolleranze prefissate (ad esempio la temperatura di un frigo costantemente mantenuta nel range 5±3 °C, in tutte le camere, su tutti i ripiani e in tutte le parti del ripiano);
3. i sistemi di controllo e monitoraggio funzionino correttamente; particolare attenzione soprattutto a indirizzi hardware/software in ingresso e in uscita, i relativi dispositivi, allarmi, password, sicurezza, sequenze operative, le interfacce operatori, le funzioni di stampa e l'effetto di interruzioni di alimentazione di corrente elettrica;
4. i dati e gli allarmi generati dall'apparecchio/strumento e registrati dal sistema di monitoraggio/controllo remoto siano congruenti.

L'ultima fase (PQ), di corretta prestazione, è costituita da un insieme di verifiche e test il cui scopo è dare evidenza documentata che il sistema operi in conformità a quanto prescritto nelle specifiche di progetto, e in modo riproducibile, nelle reali condizioni di progetto previste in procedura, ovvero garantire la conformità del prodotto processato con l'apparecchio/strumento.

Si deve perciò verificare che:

1. l'apparecchio/strumento e le sue componenti funzionino in presenza di carico standard, secondo le specifiche funzionali e che i parametri operativi rientrino negli intervalli previsti, con le tolleranze prefissate (nel caso della temperatura di un frigo costantemente mantenuta nel range 5±3 °C, in tutte le sue camere, su tutti i suoi ripiani, in tutte le parti dei ripiano);

2. le prove siano in numero sufficiente da assumere valenza statistica, quindi siano in numero adeguato (solitamente la ripetizione del test per almeno tre volte);
3. i risultati ottenuti dimostrino che il processo in esame è sotto controllo in ogni sua fase per tutti i parametri critici;
4. le eventuali deviazioni vengano documentate, indagate, corrette se e come possibile; siano poi registrate le misure intraprese e sia ripetuta questa fase di convalida per controllare soddisfazione delle specifiche.

Si devono convalidare tutti gli strumenti ritenuti critici per il processo produttivo e per le analisi di controllo qualità (ad esempio frigoriferi, congelatori, incubatori, cappe,...) e le convalide vanno effettuate nei luoghi di installazione degli apparecchi/strumenti.

Inoltre la convalida va effettuata al momento dell'acquisizione, ad ogni variazione sostanziale di utilizzo, una volta all'anno secondo un piano che deve essere preventivamente definito e se sottoposto a manutenzione programmata (semestrale o annuale), può essere riconvalidato ogni tre anni, o diversamente a seconda dell'utilizzo, dell'usura, della criticità del sistema.

Essa può essere mantenuta nel corso dell' utilizzo dello strumento attraverso l'aggiornamento delle procedure operative standard, taratura e calibratura periodica, manutenzione programmata e preventiva, riqualifiche, programma di addestramento aggiornato. E´ importante ricordare che ogni cambiamento sostanziale di uno strumento o del suo utilizzo comporta una riconvalida obbligatoria.

La convalida di uno strumento può essere effettuata da un operatore addestrato, un servizio tecnico/ingegneria clinica, ditta fornitrice, consulente esterno esperto, eventualmente può essere affidata a ditte specializzate.

La Banca in ogni caso deve approvare, ricevere, controllare, sottoscrivere e conservare tutta la documentazione della convalida con i risultati.

E´ consigliabile tenere per ogni apparecchio/strumento un “libro macchina” (log book), nel quale vengono contenuti i seguenti criteri:

▪ identificazione dell'apparecchio/strumento (numero matricola..), anno di acquisto, fornitore, recapiti dell'assistenza tecnica;

▪ ubicazione dell'apparecchio/strumento ed eventuale suo principale utilizzo;

▪ capitolato di fornitura, ordine, bolla di consegna, collaudo;

▪ manuale di utilizzo in lingua italiana;

▪ SOP di utilizzo e manutenzione ordinaria;

▪ controllo di parametri di funzionamento periodico;

▪ un “diario” di utilizzo e manutenzioni dell'apparecchiatura/strumento;

▪ eventualmente un elenco aggiornato del contenuto (ad esempio materiali stoccati nel frigo-congelatore).

2.2 TARATURA

Secondo la DE 2006/86/CE: *“La progettazione e la manutenzione di tutte le attrezzature e i materiali devono corrispondere alle loro destinazioni previste e minimizzare ogni rischio per i riceventi e/o il personale...Tutte le attrezzature che dispongono di una funzione di misurazione critica devono essere tarate su un determinato parametro di riferimento reperibile, qualora esista”*.

La taratura, che si tratti di un materiale, campione, strumento, sistema di prova o misura, è un insieme di operazioni che consente di stabilire, sotto specificate condizioni, una correlazione tra i valori di una determinata grandezza (rappresentati dal materiale o campione o indicati dallo strumento di misura) e i valori noti forniti da un elemento di riferimento, che abbia un’incertezza di misura uguale o minore.

Il processo di taratura garantisce che l'apparecchiatura sia in grado di fornire delle misure entro i limiti di tolleranza predefiniti e si snoda principalmente in tre operazioni:

- verifica che il valore misurato sia entro certi limiti;
- rilevazione dell' entità dell'errore osservato per poterlo utilizzare come fattore di correzione;
- messa a punto dello strumento per ridurre l'errore osservato per riportarlo nei limiti consentiti.

La verifica può essere effettuata tramite differenti metodi, la scelta del metodo da utilizzare dipende dal laboratorio che la esegue, i campi e/o valori in cui deve essere eseguita la taratura e la relativa incertezza, le modalità di taratura (ad esempio le condizioni ambientali in cui effettuare la taratura), l'intervallo di conferma metrologica, i criteri di accettazione e da chi vengono verificati.

La taratura perciò può avvenire per confronto diretto con un altro strumento più accurato o strumenti primari: la grandezza di ingresso (non nota) è inviata contemporaneamente al calibrando e ad uno strumento analogo avente caratteristiche metrologiche migliori di quelle del calibrando (strumento campione).

Ad esempio per tarare un termometro, si compara il valore di temperatura registrato con il valore rilevato da un termometro più accurato, tarato e certificato SIT.

Oppure la verifica può essere effettuata utilizzando materiali di riferimento (sostituzione): la correlazione tra il valore espresso dal calibrando ed un valore “noto” del misurando si ottiene sostituendo alla variabile di ingresso detto valore noto, in forma di campione o materiale di riferimento. I campioni di riferimento utilizzati per la taratura devono essere identificati come adeguati allo scopo e provvisti di certificati di taratura rilasciati dagli Istituti Metrologici Primari o da competenti Centri SIT.

Ad esempio la taratura di una bilancia con una massa campione.

L'ultimo metodo da poter utilizzare per effettuare la taratura consiste nel confronto tra laboratori (proficiency testing): ovvero la valutazione esterna della qualità analitica. Ad esempio per apparecchiature che misurano più parametri, per le quali, non esistendo la

possibilità di una taratura classica, si persegue la garanzia della riferibilità quando i risultati di una misura su un campione ignoto distribuito a più laboratori ricadono entro la fascia di incertezza definita dai valori medi riscontrati con altre apparecchiature dello stesso tipo.

I criteri e i limiti di accettabilità su cui basarsi per la taratura possono essere ricavati da: lo scarto quadratico medio o altre espressioni statistiche, specifiche dell'organizzazione identificate in un documento di riferimento, dati forniti dal fabbricante, norme di riferimento, letteratura, esperienze.

Il rapporto di taratura, che fornisce le informazioni quantitative che caratterizzano in modo completo un misurando, contiene anche altre nozioni importanti:

classe di appartenenza C, è un indice della sua accuratezza e può essere definita dalla seguente relazione

$$C = \frac{(x_m - x_v)}{P} \times 100$$

dove:

x_m è il valore misurato della grandezza,

x_v è il valore vero della grandezza,

P è la portata (o fondo scala) dello strumento.

A partire dalla classe di precisione di uno strumento si può determinare l'errore massimo assoluto di indicazione compiuto dallo strumento:

$$(x_m - x_v) = \frac{C \times P}{100}$$

Il valore di questo errore è importante in quanto il costruttore ci garantisce che, eseguita una qualsiasi misura tramite lo strumento, il corrispondente errore assoluto di indicazione risulta inferiore, per tutto il campo di misura, al valore massimo.

Inoltre è possibile calcolare l'errore relativo tramite la formula

$$\left[(x_m - x_v)/x_v\right]$$

Il risultato del processo di misurazione, la misura, è espresso tramite un'informazione contenente i seguenti parametri: la descrizione del misurando, valore numerico, unità di misura con cui è espresso, metodo di prova utilizzato, incertezza attribuibile, il livello di fiducia che caratterizza, a livello probabilistico, l'incertezza.

L'incertezza della misura è attribuita al valore numerico della misurazione effettuata, ed è definita come ampiezza (stimata) del campo di valori del misurando entro il quale si colloca il valore vero con una data probabilità; è elemento distintivo dell'adeguatezza del metodo impiegato che, a sua volta, è costituito dall'applicazione di un determinato procedimento con l'impiego di determinate apparecchiature, entrambe le componenti suddette sono fonte di incertezza (o cause di errore).

L'errore (differenza tra il valore trovato e il valore vero) è generalmente determinato da due componenti:

la **componente di precisione** (o ripetibilità o incertezza di tipo A), è la componente accidentale o causale dell'errore e deriva da fattori che non possono essere tenuti sotto controllo o il cui effettivo contributo quantitativo non può essere ragionevolmente determinato a priori; essa è determinata come dispersione (variazione standard o scarto quadratico medio) (σ) degli (n) risultati ottenuti (x_i) rispetto alla media degli stessi (x_m) ;

$$\sigma = \sqrt{\left[\sum (x_i - x_m)^2 / (n-1)\right]}$$

la **componente di accuratezza** (o esattezza o incertezza di tipo B), è la componente sistematica dell'errore, prevalentemente di origine tecnico-strumentale ed è già nota o può essere stimata a priori, alla luce delle possibili fonti di errore presenti nel metodo utilizzato.

L'errore attribuibile alla taratura dovrebbe essere il più piccolo possibile, nella maggior parte delle aree di misura, non dovrebbe essere superiore ad un terzo e, preferibilmente, ad un decimo dell'errore ammesso dall'apparecchiatura: per le apparecchiature commerciali si usa il criterio di assumere come condizione di buon funzionamento e di esattezza i valori

attribuiti al fabbricante. Qualora i valori funzionali non siano disponibili, le condizioni di buon funzionamento dovrebbero essere determinate sperimentalmente.

A titolo esemplificativo si consideri il caso della pesata tramite bilancia delle masse campione: l'incertezza sul risultato della prova può infatti essere stimata mediante ripetizione della misura (incertezza tipo A) e dai contributi dello scarto quadratico medio rilevato nelle taratura della bilancia e dell'incertezza del campione/strumento di riferimento (incertezza tipo B).

Si può quindi esprimere l'incertezza da attribuire al risultato in due modi: secondo una stima più cautelativa si compongono le due incertezze A e B in un' incertezza complessiva, secondo la seguente formula

$$U = \sqrt{(\text{scarto\%})^2 + (\text{CV\%})^2 + (\text{incertezza campione di riferimento})^2}$$

oppure secondo una stima più ottimistica si può considerare solo il valore più alto di queste due incertezze.

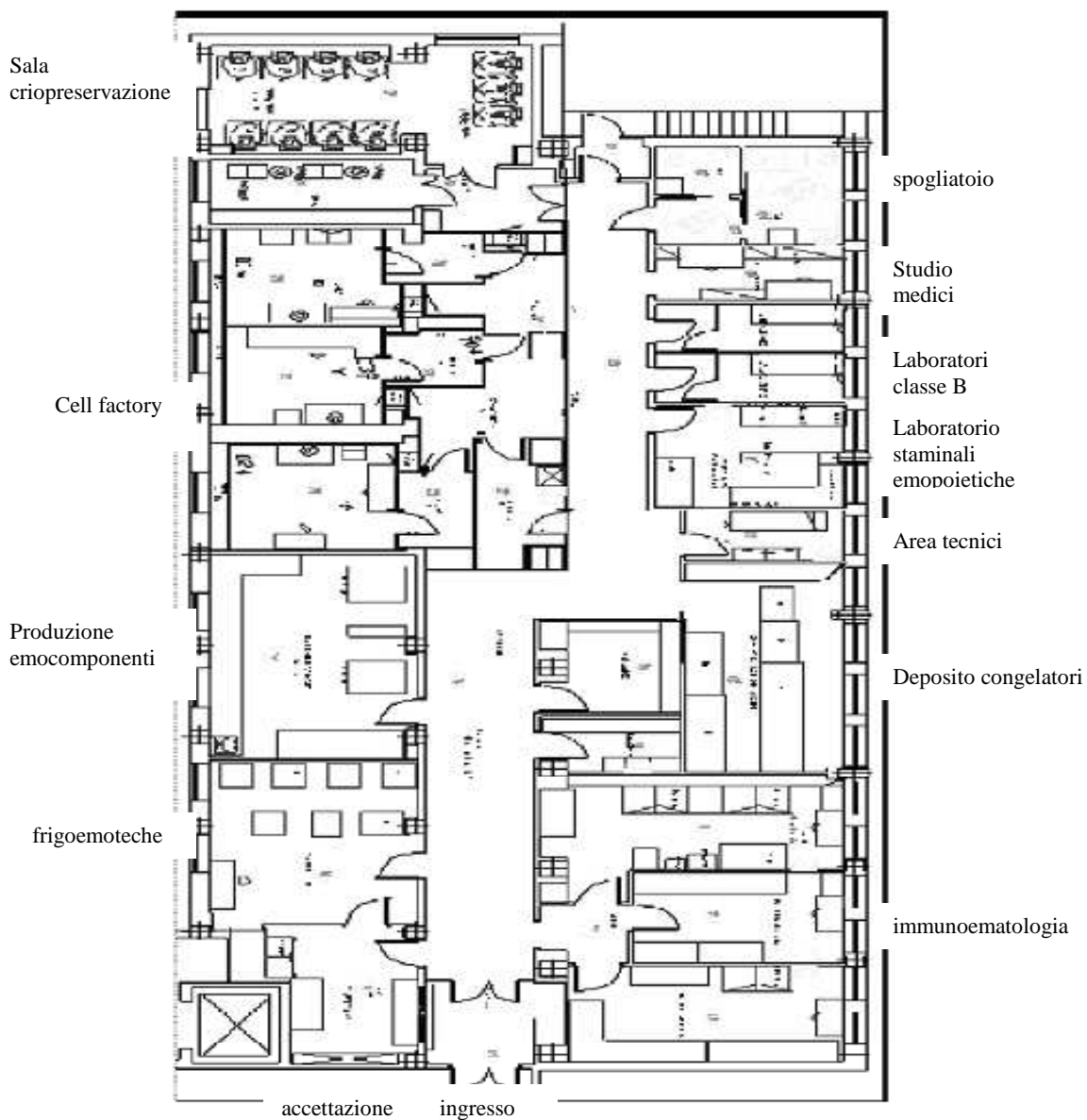
La scelta fra i due procedimenti dipende da diversi fattori, quali il numero di ripetizioni effettuate, infatti l'affidabilità del dato ottenuto cresce all'aumentare del numero di ripetizioni, e la validità del dato strumentale di taratura.

La ripetibilità o precisione percentuale, è calcolata considerando il doppio della deviazione standard e definisce l'intervallo entro cui si trova il valore vero, con un livello di probabilità del 95%.

Tabella 1.attivita nel processo di taratura delle apparecchiature

Inventario e codifica della strumentazione
↓
Caratterizzazione delle apparecchiature
↓
Scheda strumento
↓
Definizione delle necessità metrologiche
↓
riferibilità → (no) non taratura
↓
taratura
↓
Laboratorio interno/esterno? — interno / esterno → Centri SIT o altri laboratori metrologici
↓
Definizione delle procedure di taratura
↓
Conferma metrologica
↓
Definizione dei criteri e dei limiti di accettabilità
↓
Verifica di taratura
↓
Stima dell'incertezza di misura
↓
Compilazione del rapporto di taratura
↓
Parametri dentro i limiti di accettabilità → (no) Taratura (aggiustamento) / Declassamento
↓ si
Compilazione del rapporto di taratura

Capitolo 3

Servizio di Immunoematologia e trasfusionale

3.1 BANCA DEL CORDONE

La Banca del Cordone di Verona, facente parte del reparto di Immunoematologia e Trasfusionale, è situata all'interno dell'Ospedale Policlinico G.Rossi.

L'attività della Banca per la raccolta del cordone inizia con l'arruolamento delle mamme da parte della Banca stessa: l'arruolamento di norma avviene dopo la 32ª settimana, durante questa fase vengono effettuate l'anamnesi e la compilazione del questionario anamnestico dedicato, la valutazione complessiva dell'andamento della gravidanza e la raccolta del consenso informato.
Al termine della visita di arruolamento il medico esprime il giudizio di idoneità/non idoneità preliminare alla donazione del sangue di cordone ombelicale.
Per la selezione della madre disponibile alla donazione esistono criteri definiti dalla normativa vigente per la selezione del donatore di sangue ed emocomponenti: ad esempio la presenza di malattie trasmissibili con il sangue, malattie genetiche, congenite o ereditarie.

La raccolta del sangue di cordone ombelicale avviene presso una sala parto riconosciuta e qualificata della Banca del Cordone Ombelicale, nella quale operi personale professionalmente qualificato e adeguatamente preparato.
La raccolta delle cellule staminali da cordone ombelicale avviene al momento del parto, senza nessuna interferenza con il normale svolgimento del parto stesso, né alcuna compromissione della salute della madre o del bambino.
Secondo gli standard internazionali e nazionali di riferimento, la raccolta non può avvenire prima della 34ª settimana compiuta di gestazione; tuttavia la Banca del Cordone di Verona, per aderire a criteri di sicurezza ancora più stringenti, ha stabilito che la raccolta possa essere effettuata tra la 35 ª compiuta e la 42 ª settimana.

Accanto alla raccolta dell'unità di sangue cordonale viene effettuato alla madre, durante il travaglio, un prelievo ematico di circa 30 ml, finalizzato all'esecuzione degli esami previsti dalla legge e dagli standard internazionali per la qualificazione e la validazione biologica dell'Unità di sangue cordonale, con 3 provette in EDTA per l'esecuzione rispettivamente di sierologia virale, test NAT e per la tipizzazione HLA materna e con 2 provette a secco per la separazione e lo stoccaggio del siero.

Le provette sono quindi poste nell’apposito contenitore di plastica rigida trasparente, dedicato al trasporto delle Unità di sangue di cordone ombelicale raccolte e delle relative provette di accompagnamento. Le provette sono recapitate alla Banca insieme all’unità di raccolta e sono gestite dal SIT per l’esecuzione degli esami.

Per quanto concerne la raccolta dell’Unità di sangue cordonale, se non sussistono controindicazioni al momento del parto, il sangue cordonale viene raccolto secondo le seguenti procedure: dopo la nascita del neonato, il taglio del funicolo e lo spostamento del neonato per l’assistenza dovuta, si effettuano sul funicolo gli esami necessari (prelievo arterioso e venoso per la determinazione del pH e prelievo per la determinazione di gruppo sanguigno). A questo punto viene effettuata un’accurata disinfezione del funicolo, si procede poi con la venipuntura su una delle due vene ombelicali mediante un’agocannula preconnessa ad un’apposita sacca di raccolta sterile e si raccoglie tutto il sangue in esso contenuto.

L’unità raccolta, posta in un sacchetto di plastica trasparente, viene alloggiata insieme alle provette di accompagnamento nel contenitore rigido in plastica trasparente, a chiusura ermetica, a sua volta riposto in un frigo portatile dedicato al trasporto delle unità di sangue da cordone ombelicale.
L’unità viene conservata a temperatura ambiente se consegnata al SIT entro le 4-6 ore dalla raccolta, a 4ºC, in frigoemoteca a temperatura controllata , se consegnata oltre le 4-6 ore successive alla raccolta.
Le Unità di sangue di cordone ombelicale vengono quindi prese in carico dal personale della Banca del Sangue di Cordone Ombelicale, che provvede alla registrazione e all’attribuzione di un numero di identificazione, al pari di qualsiasi altra Unità di emocomponente.
L’operatore della Banca valuta rispettivamente l’Unità, in particolare l’integrità della sacca e l’eventuale presenza di coaguli, l’adeguata e completa etichettatura, la corrispondenza dei dati anagrafici della madre e del bambino presenti sulla sacca di raccolta, sulla modulistica e sulle provette di accompagnamento.

Dopo questa prima fase di ispezione e identificazione dell’Unità, l’operatore procede alla lavorazione, che prevede il calcolo del volume raccolto, il campionamento iniziale, la

riduzione del volume dell’Unità, la determinazione dei parametri di qualificazione delle cellule staminali contenute.
Nel caso in cui all’ispezione risultasse la presenza di coaguli all’interno della sacca si procede immediatamente alla filtrazione della sacca stessa, utilizzando un deflussore da trasfusione, che è in grado di trattenere coaguli e macroaggregati, senza modificare il contenuto in leucociti della sacca. La filtrazione deve essere effettuata mantenendo la sterilità del contenuto della sacca, mediante utilizzo di sistema chiuso ovvero effettuando l’operazione in cappa sterile con strumenti sterili.
Anche il volume è un elemento critico per la validazione del sangue cordonale in quanto correlato con il numero complessivo di cellule nucleate presenti all’interno dell’Unità stessa: al di sotto di un volume definito, il numero di cellule nucleate è sempre inferiore al limite minimo considerato sufficiente per l’utilizzo delle cellule staminali cordonali. Il range valido del volume di sangue cordonale raccolto è di 50-160 ml.

Se l’Unità risponde ai requisiti stabiliti dagli standard di riferimento, viene considerata inizialmente idonea e viene quindi sottoposta a lavorazione,a criopreservazione e crioconservazione in vapori di azoto.
Lo stoccaggio delle Unità in attesa di validazione avviene in appositi contenitori in vapori di azoto, dedicati esclusivamente alla conservazione delle Unità di sangue cordonale non validate, dove le Unità vengono conservate in quarantena fino alla validazione definitiva, che avviene a distanza di 6-12 mesi dalla donazione, dopo ricontrollo degli esami previsti dalla legge eseguiti sulla madre e dopo accurata valutazione pediatrica del bambino.

Il personale addetto presso la Banca è composto: da tecnici di laboratorio, dal Biologo di riferimento e dalla Dottoressa responsabile della Banca.

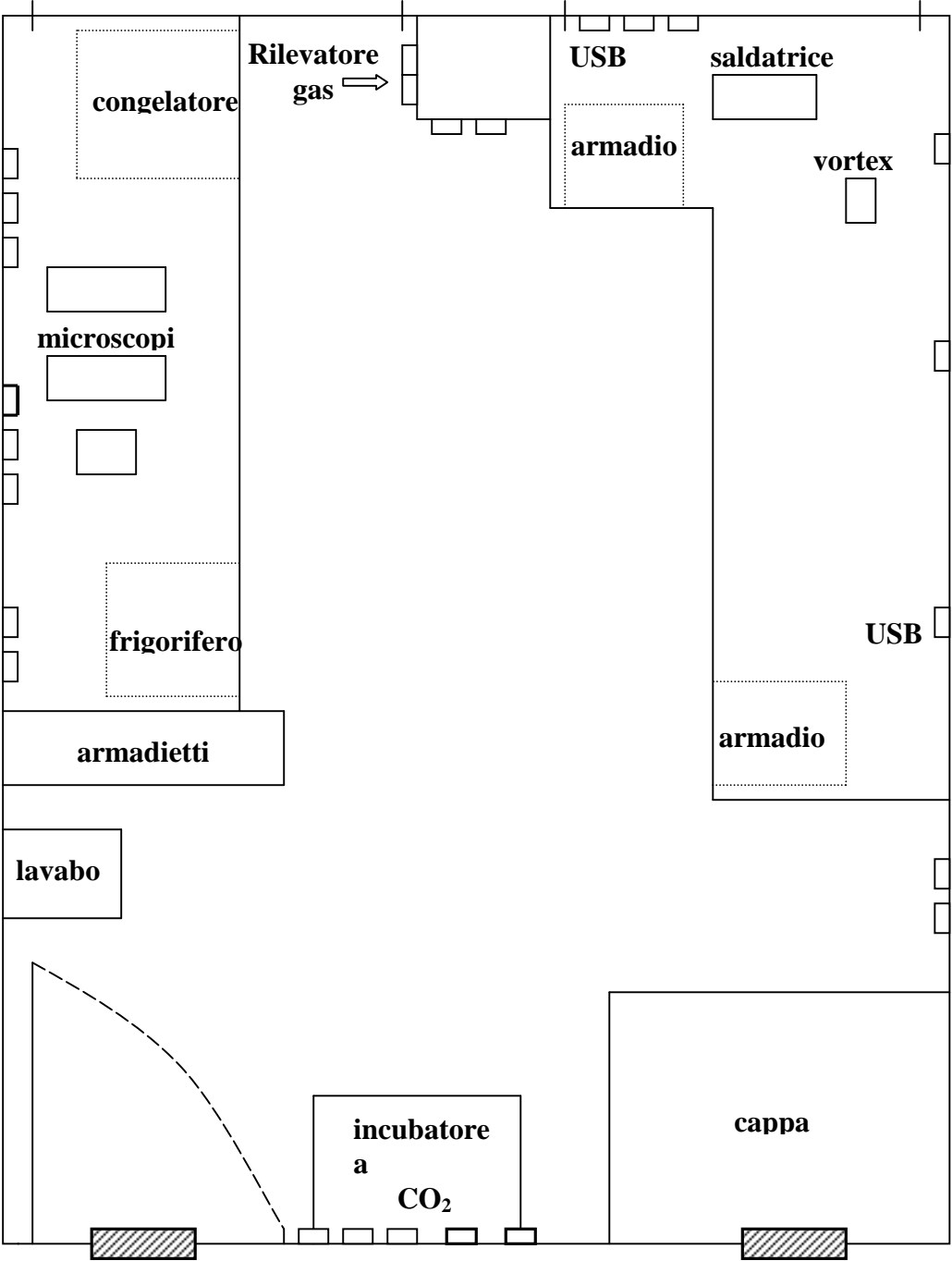
I locali adibiti a quest’attività di valutazione, lavorazione e conservazione dell’Unità di sangue cordonale sono: i laboratori per la lavorazione del materiale per la criopreservazione (locali di classe B), il laboratorio di cellule staminali emopoietiche, la sala di criopreservazione.

La sala di criopreservazione è composta da tre ambienti:

- l' ingresso, in cui sono presenti i segnalatori di allarmi e i pannelli di comando della sala stessa, i dispositivi di protezione individuale e i presidi di primo soccorso;
- la sala di criopreservazione dedicata alla fase di congelamento delle Unità di sangue cordonale: all'interno sono presenti due apparecchi per il congelamento a discesa programmata della temperatura, uno dedicato al congelamento delle Unità di sangue di cordone ombelicale e uno dedicato al congelamento di cellule staminali emopoietiche periferiche o midollari;
- la sala di stoccaggio attrezzata con contenitori di azoto destinati alla conservazione in contenitori separati delle Unità di sangue di cordone ombelicale, con conservazione in contenitori separati delle Unità non ancora validate e delle Unità definitivamente qualificate.

Il laboratorio all'interno del quale avvengono le fasi per la criopreservazione dell'Unità è di classe B. I luoghi di classe B sono luoghi nei quali è richiesto, per l'accesso di indossare, il copricapo per coprire completamente i capelli e, dove rilevante, la barba e i baffi; il copricapo dovrebbe essere rimboccato nel collo del vestito; si dovrebbe portare una maschera di protezione per impedire lo spargimento delle goccioline. Dovrebbero inoltre essere indossati appropriati guanti sterili in gomma o in plastica senza polvere e calzature sterilizzate o disinfettate. Il fondo dei pantaloni dovrebbe essere rimboccato all'interno delle soprascarpe ed i manicotti delle braccia all'interno dei guanti. Gli indumenti inoltre dovrebbero essere in materiale a basso rilascio particellare. Inoltre la vestizione è regolata da particolari norme che impediscono la contaminazione dei vestiti da utilizzare nei locali di classe B e mantenerli quindi sterili.
All'interno di questo laboratorio ha accesso solamente il personale autorizzato e adeguatamente addestrato.
Il materiale biologico viene lavorato per poter essere poi criopreservato.

Il laboratorio di cellule staminali emopoietiche, invece, contiene la maggior parte del materiale adibito alla Banca del Cordone, all'interno del quale si trova situata anche la cappa, per la lavorazione sterile del materiale biologico.

Immagine2. Pianta laboratorio cellule staminali emopoietiche

Immagini del laboratorio

3.2 LISTA DEL MATERIALE

Ai fini della redazione del Validation Master Plan per i materiali/strumenti utilizzati all'interno del laboratorio, dopo aver compreso i procedimenti che stanno alla base del funzionamento della Banca, è stato necessario redigere una lista di tutta la strumentazione, le attrezzature, i materiali e i prodotti in uso. Questa lista sarà poi utile al personale addetto alla compilazione del piano di convalida, avendo a disposizione una rapida consultazione degli oggetti da esaminare. Sarà poi più facile tenere controllata la fornitura, qualora dovesse subire variazioni (materiali nuovi utilizzati o cambio di un prodotto con un altro).

Sono stati catalogati anche le attrezzature a disposizione del laboratorio, come gli armadietti, nei quali vengono riposti i materiali, oppure le sedie; questi materiali però non verranno sottoposti a tutte le fasi che la convalida prevede, ma si limiteranno solamente alla fase di Urs e quindi le caratteristiche che deve avere e la DQ, ovvero la corrispondenza del prodotto che il fornitore propone con tali specifiche.

Ad esempio per quanto concerne le sedie all'interno del laboratorio è richiesto che siano regolabili e realizzate con un materiale a bassa dispersione particellare e soprattutto facilmente pulibili.

Tabella 2. Lista del materiale

Strumentazione
Cabina di sicurezza classe2 a microprocessore Incubatore a CO_2 Frigorifero Congelatore Armadio con chiave Armadio con chiave Microscopio invertito Microscopio invertito Rilevatore di gas Vortex Counter AC-8
Utenze
CO_2 Acqua Alimentazione elettrica

Tabella2. Lista del materiale

Attrezzatura
Carrello Piano da lavoro Sedie Frigo per il trasporto Materiale per il trasporto delle sacche e provette Lavabo Contenitore per i rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo,taglienti o pungenti
Sostanze utilizzate
Disinfettante: IPA al 70% in miscela di acqua deionizzata CryoSure DMSO Lisante Brodi coltura Bact/Alert per batteri aerobi e anaerobi Acqua sterile Cryo·on
Materiale
Timer-Fisherbrand Timer Compresse piegate di garza non sterile Compressa singola piegata di garza sterile (involucro in carta) Compresse piegate di garza sterile (involucro in plastica)

Tabella 2. Lista del materiale

Materiale
Pipette di precisione GILSON®: • p20 • p100 • p200 • p1000 Provette Vacutainer: • serum 6,0ml • EDTA 6,0ml Provette Nalgene 1,5 ml CryoMACS Freezing Bag 250 Guanti in vinile senza polvere Guanti profile Gel 3000 Camera di Neubauer 0,0025 mm^2 Dischi per la coltura cellulare Nalgene Cryo1 Freezing Container Siringhe eccentriche 20 ml Siringhe con ago 2ml Siringhe con ago eccentriche 10 ml Siringhe con ago da 5 ml Aghi 1.1x40 mm Aghi 1.6x40 mm

Immagine del laboratorio: Cappa e incubatore a CO_2

Capitolo 4

Lavoro svolto all'interno della Banca

A fronte del numero consistente di materiale/strumentazione che si trova nel laboratorio e che viene utilizzato per la lavorazione è importante ricordare che per la sterilità o per aspetti qualitativi del prodotto finale non ci si può basare solo su controlli al termine del processo o sul prodotto finito, ma è necessaria una **"***validazione* (o qualifica nel caso di apparecchiature o di ambienti), *ovvero la produzione di prove documentate, in grado di garantire con un elevato livello di certezza che determinati procedimenti, attrezzature o ambienti diano luogo ad un* ***prodotto conforme alle specifiche e alle caratteristiche qualitative prestabilite****; un procedimento è convalidato al fine di valutare se un sistema funziona efficacemente* ***in rapporto all'impiego previsto"*** *(Direttiva 2006/86/CE).*

I processi critici perciò devono essere validati e le apparecchiature critiche qualificate, in modo che i tessuti o le cellule non siano resi inefficaci o nocivi per il ricevente.
Si definisce critico ciò che ha potenzialmente effetto sulla qualità e/o sicurezza di cellule e tessuti o è a contatto con cellule e tessuti.

La validazione comporta diverse fasi, come l'addestramento del personale, per evitare condizioni di rischio, la revisione e l'approvazione di protocolli e risultati e la rivalidazione regolare ad intervalli predefiniti, tutte queste fasi sono parte del Validation Master Plan.

Durante il tirocinio è stato approfondita e sviluppata la parte riguardante la validazione del materiale presente e utilizzato all'interno del laboratorio di cellule staminali emopoietiche, secondo lo schema della convalida sviluppato in quattro fasi (DQ, IQ, OQ-PQ), con lo **scopo di creare un modello consultabile e applicabile ad ogni tipo di strumento/materiale**.
Le altre fasi del VMP sono racchiuse principalmente all'interno delle "Grida", contenenti le procedure per l'addestramento del personale responsabile all'interno della Banca, per l'arruolamento delle mamme donatrici, la lavorazione dell'Unità del sangue cordonale, le procedure per la vestizione in luoghi di classe B e i protocolli da utilizzare.

Il rapporto di convalida permette di valutare, inizialmente e periodicamente, la validità del materiale: ovvero consente di valutare la conformità dell'oggetto in esame mediante criteri basati, a seconda della natura dello strumento/sostanza utilizzata, su normative o esperienze derivanti dall'utilizzo e dalla lavorazione (ad esempio le sacche per la crioconservazione sono state scelte fra diverse proposte in base alla funzionalità a cui erano destinate ed in base all'esperienza di utilizzo, sono state perciò scelte sacche composte da doppi sacchetti sterili, che garantiscono la sterilità del prodotto biologico e munite di tubi con connettori e sedi per le iniezioni, funzionali per il prelievo di eventuali campioni senza compromettere l'intero contenuto della sacca).

Ai fini della valutazione e della redazione della convalida è importante sottolineare che tutti i materiali e i reagenti utilizzati nel processo di produzione devono essere dotati di certificazione per uso clinico. Nel caso dei materiali dovrebbero essere garantite sterilità, apirogenicità e assenza di contaminanti chimici, biologici e da agenti avventizi.

Il processo di convalida inizia dalla definizione del materiale da sottoporre al processo, in questo caso si tratta di tutti i prodotti che sono presenti e sono utilizzati all'interno del laboratorio e presenti sulla lista precedentemente presentata.

La Fase di definizione delle caratteristiche che il committente richiede al fornitore (URS) non ha caratteristiche generali, ma è proprietà di ogni singolo strumento/materiale, sarà il richiedente a specificare per ogni richiesta le proprie esigenze.

Per quanto concerne la strumentazione il procedimento di convalida richiede che siano presentate nella fase di Design Qualification (DQ) tutte le caratteristiche tecniche che lo strumento offre, che possono essere ricavate da una lettura approfondita del manuale di istruzioni in allegato e dalla lettura della targa applicata sullo strumento stesso. Dal manuale devono essere poi accuratamente evidenziate tutte quelle caratteristiche che potrebbero essere considerate critiche, ad esempio il peso o le dimensioni potrebbero risultare determinanti ai fini della scelta di uno strumento, in quanto devono essere compatibili con lo spazio disponibile all'interno del laboratorio, oppure la corrente di alimentazione che deve risultare compatibile con il voltaggio fornito e altre informazioni specifiche di ogni singolo

strumento in base alla funzione a cui è destinato, ad esempio il range di temperatura di congelamento di cui predispone il congelatore.

Lo stesso principio può essere applicato ai materiali utilizzati, basandosi sulle schede tecniche che la ditta fornitrice allega.

Infine per le sostanze utilizzate, che vengono a contatto con il prodotto da lavorare, si devono riportare tutte le sostanze contenute all'interno di esse che possono essere ritenute critiche e la funzione a cui è destinato il prodotto in esame al fine di verificare la compatibilità con la funzione a cui si vuole destinarle.

Per tutti questi tipi di materiale/strumento è importante individuare lo scopo per cui sono stati progettati e verificare che esso sia compatibile con la particolare funzione a cui sono destinati all'interno del laboratorio.

Sia per le apparecchiature che per i prodotti utilizzati devono essere riportate le normative applicabili allo strumento e che esso deve rispettare, durante questa prima fase inoltre si deve verificare la corrispondenza, in base alle specifiche tecniche, dell'apparecchiatura/strumento alla funzione desiderata ("intended for use").

La seconda fase della convalida, Installation Qualification (IQ), consiste principalmente in una verifica preliminare del sistema. Ad esempio lo stato di integrità del materiale in ogni sua componente, soprattutto per i materiali sterili bisogna controllare l'integrità della confezione; la corretta installazione dell'apparecchiatura, nel rispetto inoltre di alcune specifiche che la ditta fornitrice segnala all'interno del manuale per il corretto funzionamento o per il corretto utilizzo del materiale (per l'incubatore a CO_2 si consiglia di tenerlo a debita distanza dalla luce solare o da fonti di calore o per i microscopi invertiti non posizionarli nelle vicinanze di fonti luminose ed evitare qualsiasi contatto con l'acqua).
Si deve controllare che sia presente ogni componente riportata nel manuale d'istruzioni.

Sia per i materiali sia per gli strumenti, si deve controllare la validità delle certificazioni che la ditta allega (riguardanti gli esperimenti che la ditta stessa

effettua e che attesta) e verificare la validità e il rispetto delle normative alle quali la ditta ha fatto riferimento.

Le ultime due fasi del procedimento di convalida, Operational Qualification e Performance Qualification, possono essere spesso riunite in un’unica fase.

La fase di Operational Qualification consiste nella verifica preliminare dello strumento, in assenza di carico, si tratta di un controllo preliminare per verificare il corretto funzionamento dell’apparecchio, prima del funzionamento in condizioni standard (ad esempio per un refrigeratore si controlla la distribuzione uniforme della temperatura nei diversi ripiani).

Per quanto concerne la strumentazione questa fase si svolge con la prova degli elementi critici dell’apparecchio, come la verifica del corretto funzionamento del sistema di allarme o dei filtri HEPA, il controllo della corretta taratura della strumentazione analitica e test per il funzionamenti in assenza di carico.

Per quanto riguarda invece i materiali e i prodotti utilizzati durante le fasi di lavorazione si possono effettuare alcuni test con dei campioni di prova, ad esempio di soluzione fisiologica, per verificare la resistenza dei materiali alle basse temperature (il materiale biologico viene conservato a temperature comprese tra –196 ºC e –150 ºC e le sacche quindi devono essere in grado di mantenere le proprie caratteristiche anche a tali temperature), i prodotti inoltre non devono influire sul materiale biologici nei passaggi per la criopreservazione.

Nel manuale è possibile trovare indicazioni per alcune prove da effettuare durante questa fase di convalida, soprattutto per caratteristiche particolari della strumentazione, ad esempio per la cabina di classe2 a microprocessore vengono riportati alcuni metodi per verificare l’efficacia del filtro d’aria, per il controllo quindi del flusso laminare dell’aria all’interno della cappa, che serve a garantire la sterilità dell’ambiente interno. Questi test ad esempio utilizzano particolari tipi di aerosol da inserire all’interno della cappa.

L’ultima fase della convalida (IQ) invece prevede la verifica del funzionamento in condizioni di operatività standard, ovvero durante il funzionamento a cui sono destinati. È buona norma evitare in questa fase possibili cause di eventi avversi.

Un evento avverso è definito come qualunque evento negativo collegato con l'approvvigionamento, il controllo, la lavorazione, lo stoccaggio e la distribuzione di tessuti e cellule.

Ad esempio per il corretto funzionamento del frigorifero e quindi per evitare tali situazioni critiche durante il normale funzionamento dello strumento, si deve mantenere una sufficiente distanza tra un campione e l'altro in modo da evitare eventuali contaminazioni o il congelamento tra campioni separati, che possono compromettere l'integrità dei campioni stessi.

Durante l'ultima fase di Performance Qualification si deve perciò verificare che i parametri caratterizzanti lo strumento/prodotto in esame rispettino le specifiche del produttore e le specifiche desiderate (ad esempio il range di temperatura, di CO_2, la conservazione corretta del materiale biologico all'interno di una sacca e con un determinato prodotto) e accertarsi della corrispondenza allo scopo designato.

Se il report di convalida viene effettuato quando lo strumento è già in uso, i controlli per quest'ultima fase vengono effettuati verificando i parametri riportati nelle precedenti opere di manutenzione ordinaria, controllando la corrispondenza dei dati con i dati richiesti per il corretto funzionamento. Questi vengono allegati al documento di convalida.

4.1 TABELLA REDATTA

Per rendere utilizzabile il piano di convalida all'interno della Banca è stata sviluppato un modello da poter inserire all'interno delle "Grida", ovvero un insieme di documenti che regolano le diverse attività. Il modello è generico, in modo che sia applicabile a qualsiasi strumentazione, materiale e prodotto in uso.
La prima parte del documento riporta in breve alcune nozioni per spiegare agli operatori che si troveranno ad utilizzarlo quali siano le varie fasi della convalida e i report, ossia la vera convalida, che consiste in diverse voci da contrassegnare durante la verifica. Ogni report a fine pagina riporta la firma del redattore, dell'operatore che ne verifica la validità e l'approvazione, in quanto ogni singola fase potrebbe essere sviluppata in momenti differenti e da differenti operatori e deve essere sempre approvata dal responsabile della Banca.

SCOPO

Scopo del presente documento è la descrizione delle fasi e dei criteri utilizzati per definire e validare strumentazione, materiali, prodotti e corrispondenti fornitori presso la Banca di Cordone Ombelicale.
Le modalità di svolgimento di tale convalida fanno riferimento al modello proposto dal Validation Master Plan.

APPLICABILITÀ

Le attività di questo documento di convalida vengono effettuate al momento della valutazione dei prodotti sul mercato e offerti dai fornitori, al momento della consegna del prodotto e prima dell’utilizzo in condizioni standard.
Sono applicabili anche per una rivalutazione periodica del prodotto.

DESCRIZIONE

Il Validation Master Plan serve a garantire che tutte le apparecchiature,procedure,ecc.. che possono influire sulla qualità o efficacia o integrità del prodotto, siano convalidate; esso perciò contiene i principi generali cui conformarsi durante l’attività di convalida e la pianificazione di tutte le attività da svolgere.
La convalida è la procedura per ottenere l' evidenza documentata che un processo o un'apparecchiatura/strumento siano in grado di fornire una prestazione o un prodotto conforme alle specifiche e alle caratteristiche di qualità predeterminate.
Essa inizia dalla User Requirement Specification, nella quale vengono specificate tutte le caratteristiche del sistema che l’utilizzatore committente richiede al fornitore, ovvero l’insieme dei requisiti di base, delle funzioni, delle attività che l’apparecchio/strumento deve possedere per garantire l’ottenimento della prestazione desiderata.

DESCRIZIONE

Per ciascun apparecchio/strumento/attività le fasi di convalida e qualificazione sono identificabili in quattro fasi principali:

5. **DQ** design qualification
6. **IQ** installation qualification
7. **OQ** operational qualification
8. **PQ** performance qualification

La prima fase della convalida (DQ) consiste nel documento in cui il fornitore presenta la propria proposta per la realizzazione di un impianto o le caratteristiche tecniche dell'apparecchio, in base alle esigenze del committente, ovvero l’applicabilità delle richieste dell’utilizzatore. Costituisce quindi l'offerta dell'apparecchio/strumento da parte del fornitore; se rispondente ai requisiti, il committente ne emette l'ordine d'acquisto.

A tal proposito è importante ricordare che anche la fase di valutazione dei fornitori e approvvigionamento dei prodotti acquista valore rilevante prima e durante la fase di convalida. La valutazione dei fornitori si basa principalmente su referenze di mercato, presenza del servizio di assistenza post vendita, adeguatezza e conformità legislativa dei prodotti, professionalità del personale, non conformità rilevate nelle forniture test, analisi e valutazione dei parametri definiti.
Annualmente è consigliata una rivalutazione dei fornitori secondo gli stessi parametri definiti per la valutazione iniziale.

La seconda fase della convalida (IQ) consiste nella corretta installazione, essa verte su un insieme di verifiche volte a dare evidenza che il sistema oggetto di convalida è stato realizzato e installato correttamente secondo la documentazione progettuale e che esistono procedure in grado di assicurare il mantenimento dello stato di convalida nel tempo, compresa la taratura della strumentazione critica.

La fase di corretto funzionamento (OQ) si basa su un insieme di verifiche e test volti a documentare che il sistema operi in conformità a quanto prescritto nelle specifiche di progetto, in corrispondenza di condizioni di funzionamento prefissate.

.

DESCRIZIONE

E′ perciò necessario verificare che:

- strumenti gli critici siano stati tarati secondo il programma di taratura previsto, ovvero si deve procedere alla taratura prima della convalida;
- l'apparecchio o strumento e le sue componenti funzionino in assenza di carico e che i parametri operativi rientrino negli intervalli previsti, con le tolleranze prefissate (ad esempio la temperatura di un frigo costantemente mantenuta nel range 5±3 °C, in tutte le camere, su tutti i ripiani e in tutte le parti del ripiano);
- i sistemi di controllo e monitoraggio funzionino correttamente; particolare attenzione soprattutto a indirizzi hardware/software in ingresso e in uscita, i relativi dispositivi, allarmi, password, sicurezza, sequenze operative, le interfacce operatori, le funzioni di stampa e l'effetto di interruzioni di alimentazione di corrente elettrica;
  i dati e gli allarmi generati dall'apparecchio/strumento e registrati dal sistema di monitoraggio/controllo remoto siano congruenti.

L'ultima fase (PQ), di corretta prestazione, è costituita da un insieme di verifiche e test volti a dare evidenza documentata che il sistema opera in conformità a quanto prescritto nelle specifiche di progetto, e in modo riproducibile, nelle reali condizioni di progetto previste in procedura, ovvero serve a garantire la conformità del prodotto processato con l'apparecchio/strumento.

ALLEGATI

In allegato sono riportati i report per le diverse fasi di convalida, da utilizzare durante la procedura

Tipo di documento:
Titolo del documento:

ALLEGATO Nº	
1	Report Urs
2	Report DQ
3	Report IQ
4	Report OQ-PQ
5	Report valutazione fornitori
6	Report convalida

Tipo di documento:
Titolo del documento:

strumento/materiale	
n° matricola/n° lotto	

DESIGN QUALIFICATION: proposta del fornitore, ovvero applicabilità delle richieste del fornitore.

	Verifica positiva	**Verifica negativa**
Verifica corrispondenza scopo strumento/materiale con funzione desiderata (“intended for use”)		
Presenza caratteristiche tecniche riportate nel manuale (generali e particolari dello strumento)		
Presenza “documentazione as built”		
Manuale delle istruzioni per il corretto utilizzo		
Rispondenza alle normative/standard a cui strumento/materiale fa riferimento		
Presenza di certificati di conformità della ditta fornitrice		
Presenza di certificati di taratura/calibrazione nel caso di strumentazione analitica		
Operazioni per la pulizia e la manutenzione ordinaria		
Identificazione di eventuali sostanze particolari presenti nello strumento/materiale		
Offerta da parte del fornitore e ordine d’acquisto		
Specifica per le utenze		

NOTE:

CONTROLLO DEL DOCUMENTO

Redatto da:	Firma:	Data:
Verificato da:	Firma:	Data:
Approvato da:	Firma:	Data:

Tipo di documento:
Titolo del documento:

strumento/materiale	
nº matricola/nº lotto	

INSTALLATION QUALIFICATION: verifica della corretta realizzazione e installazione del sistema, secondo la documentazione progettuale.

	Verifica positiva	**Verifica negativa**
Controllo integrità dell'imballaggio		
Verifica della compatibilità delle caratteristiche tecniche con caratteristiche del locale (dimens, umidità, temp, filtrazione aria)		
Controllo visivo dell'integrità dello strumento/prodotto		
Controllo della presenza di tutte le componenti del prodotto riportate nel manuale		
Presenza/disponibilità del personale autorizzato per l'installazione e collaudo		
Verifica della corretta installazione dello strumento		
Verifica del rispetto delle normative		
Verifica della validità del certificato allegato		
Verifica che i materiali siano esenti da micoplasmi, siano apirogeni e sterili se necessario		

NOTE:

____

____

CONTROLLO DEL DOCUMENTO

Redatto da:	Firma:	Data:
Verificato da:	Firma:	Data:
Approvato da:	Firma:	Data:

Tipo di documento:
Titolo del documento:

strumento/materiale	
n° matricola/n° lotto	
Riferimento manuale	

OPERATIONAL-PERFORMANCE QUALIFICATION: insieme di verifiche e test volti a documentare che il sistema operi in conformità a quanto specificato.

	Verifica positiva	**Verifica negativa**
Controllo che lo strumento ed eventualmente suoi componenti siano conformi e tarati		
Controllo funzionamento corretto dello strumento in assenza di carico		
Verifica corretto funzionamento di particolari funzioni (allarmi, filtri, flussi d'aria, sonda monitoraggio)		
Ripetere la prova per verificare il corretto funzionamento con carico standard (evitando situazioni critiche)		
Controllo resistenza ed efficacia del materiale/sostanza utilizzato per la funzione designata (con campioni di prova)		
Necessità di azioni correttive o riqualificazione		

Operazioni da svolgere nel caso di **"WORST CASE EVENT"**, caso peggiore che possa presentarsi, ma non sia comunque un evento avverso:

Resistenza ed efficacia del materiale/prodotto		
Possibilità di recupero del materiale/prodotto per il funzionamento standard		

CONTROLLO DEL DOCUMENTO

Redatto da:	Firma:	Data:
Verificato da:	Firma:	Data:
Approvato da:	Firma:	Data:

Tipo di documento:
Titolo del documento:

strumento/materiale	
nº matricola/nº lotto	

CONVALIDA

Lo strumento, oggetto di convalida, è risultato conforme ai parametri richiesti	
Lo strumento, oggetto di convalida, risulta conforme ai parametri richiesti in seguito ad azioni correttive	
Lo strumento, oggetto di convalida, non è idoneo, in quanto non conforme ai parametri richiesti, anche dopo azioni correttive	

Variazioni/Deviazioni rilevate	
Azioni correttive	
Rilascio	

NOTE:

____

____

____

CONTROLLO DEL DOCUMENTO

Redatto da:	Firma:	Data:
Verificato da:	Firma:	Data:
Approvato da:	Firma:	Data:

4.2 Esempi di materiale

Per la compilazione del piano di convalida è stato necessario leggere attentamente il manuale di istruzioni o le schede tecniche allegate al materiale, in quanto all'interno di essi vengono riportati i dati con cui compilare il piano e spesso determinate attività di convalida richieste per particolari funzioni della strumentazione, ad esempio per il frigorifero la verifica degli allarmi o per la cappa la verifica della funzionalità dei filtri per il mantenimento dell'ambiente sterile.

Durante la lettura dei manuali, per ogni apparecchiatura, ho raggruppato le informazioni nelle quattro fasi (DQ,IQ,OQ-PQ) in modo da rendere più agevole l'attività della convalida per il responsabile che si troverà ad effettuarla ed in modo che la compilazione della tabella comporti solamente un riscontro con il punto della corrispondente fase nel riassunto del manuale.

Riporto di seguito alcuni esempi di apparecchiatura e di sostanza presenti all'interno del laboratorio.

Esempi di materiale

INCUBATORE a CO_2

Modello: MC-20AIC

Numero di serie: 60406440

Ditta fornitrice: SANYO

DQ)

Specifiche dello strumento

Dimensioni esterne: 770x708x900 mm [LxPxA]

Dimensioni interne: 620x623x665

Capacità effettiva: 195 litri (214 l totale)

Esterno: acciaio zincato verniciato a fuoco

Interno: lega acciaio inox-rame

Porta esterna: PMMA/PVC

Porta interna: vetro antisfondamento

Isolamento: poliuretano schiumato

Sistema di riscaldamento: Sistema DHA (camicia riscaldante sistema a camicia d'aria)

Serpentine riscaldanti: 395W

Sistema di umidificazione: a evaporazione naturale da bacinella

Display temperatura: display digitale

Display percentuale CO_2:	display digitale
Circolazione aria:	mediante ventola
Lampada UV:	da 4W, tipo senza Ozono
Sensore livello acqua:	tipo ottico
Allarmi:	allarme temperatura,allarme CO_2,allarme sovratemperatura,allarme per porta aperta
Collegamento CO_2:	tubo diametro da 4 a 6 mm
Pressione gas CO_2:	0.35 bar
Accessori:	5 vassoi,5 supporti vassoi, 1 tubo gas, 1 bacinella di umidificazione, 2 tubi
Peso:	106 kg

Prestazioni

Condizioni ambientali di utilizzo:	temperatura da +5ºC a 35ºC, umidità minore o uguale a 80%
Campo di controllo della temperatura:	da temperatura a +5ºC a 50ºC (con temperatura ambiente da +5ºC a 35ºC)
Fluttuazioni della temperatura:	±0.25ºC (con temperatura ambiente 25ºC,impostazione 37ºC,5%,nessun carico)
Variazione della temperatura:	±0.1% (con temperatura ambiente 25ºC,impostazione 37ºC,5%,nessun carico)
Range di controllo CO_2:	da 0 a 20 %
Variazione CO_2:	±0,15% (con temperatura ambiente 25ºC,impostazione 37ºC,5%,nessun carico)
Umidità interna:	95 ± 5 %

Massimo consumo elettronico: 380W

Alimentazione: 220V fino 240 V

Massima emissione di calore: 1370 kj/h

Rumorosità: 30 db

L'apparecchio è fornito di manuale di istruzioni in cui sono specificate:

- tutte le componenti dell' incubatore;
- le precauzioni per assicurare lavori in sicurezza (ad esempio l'utilizzo di una presa di corrente dotata di terra per prevenire shock elettrici, locali privi di acidi o gas aggressivi);
- cautele di utilizzo da adottare (ad esempio la temperatura dell' incubatore deve essere superiore di almeno 5ºC rispetto la temperatura ambientale, l'utilizzo della bacinella di umidificazione e della lampada UV);
- metodo di corretta installazione, il luogo di installazione (ad esempio non esposto alla luce solare diretta o nelle vicinanze di un termo o di una grata del condizionatore);
- metodo per prevenire la contaminazione all'interno dell'incubatore;
- le operazione per l'impostazione della temperatura e della CO_2,da eseguire in seguito all'installazione, portando l'apparecchio ai parametri desisderati.

L'apparecchio è realizzato in inCusaFe, le cui proprietà battericide contrastano la corrosione dell' acciaio inox, l1azione battericida del rame e la superficie in rame continuamente sottoposta all'azione dell'umidità determinano la formazione degli ossidi di rame, inibitori di microorganismi. La lega rame-acciaio inox evita la formazione di ossidi assicurando comunque l'azione del rame.

Sono presenti filtri HEPA sui gas in ingresso.

Il sistema di controllo di tipo PID monitorizza l'aria nella camicia per assicurare la migliore precisione della temperatura, la cui accuratezza risulta essere ±0.1ºC.

La lampada UV è totalmente isolata e non svolge alcuna azione sulla colture cellulari.

L'apparecchio è dotato di allarmi e funzioni di sicurezza (ad esempio il superamento limite di temperatura, allarme automatico della temperatura e CO_2 impostate, anormalità nel sensore della temperatura interna).

In un allegato sono riportate le SOP per: manutenzione e pulizia ordinaria; in caso di contaminazione dell' incubatore; in caso di rusting.

IQ)

Verificare che lo strumento e il materiale di cui è composto sia conforme alle norme europee vigenti.

Controllare visivamente che l'apparecchio risulti integro, in tutte le sue componenti e controllare che siano collocate correttamente e risultino stabili nella loro posizione.

Controllare che le richieste per le precauzioni per i lavori in sicurezza e dell'ambiente per le condizione ottimali siano rispettate (ad esempio piano di appoggio robusto, temperatura ambientale rispetto a quella dell' incubatore).

Verificare che siano applicate le precauzioni per evitare la contaminazione e sterilizzare l'apparecchio in tutte le sue componenti, come da istruzioni.

Controllare i collegamenti alla bombola di CO_2 (ad esempio che i tubi siano intatti e collegati in modo robusto, la pressione del gas adeguata).

Effettuare la calibrazione della temperatura e della CO_2 seguendo le istruzioni del manuale d'uso.

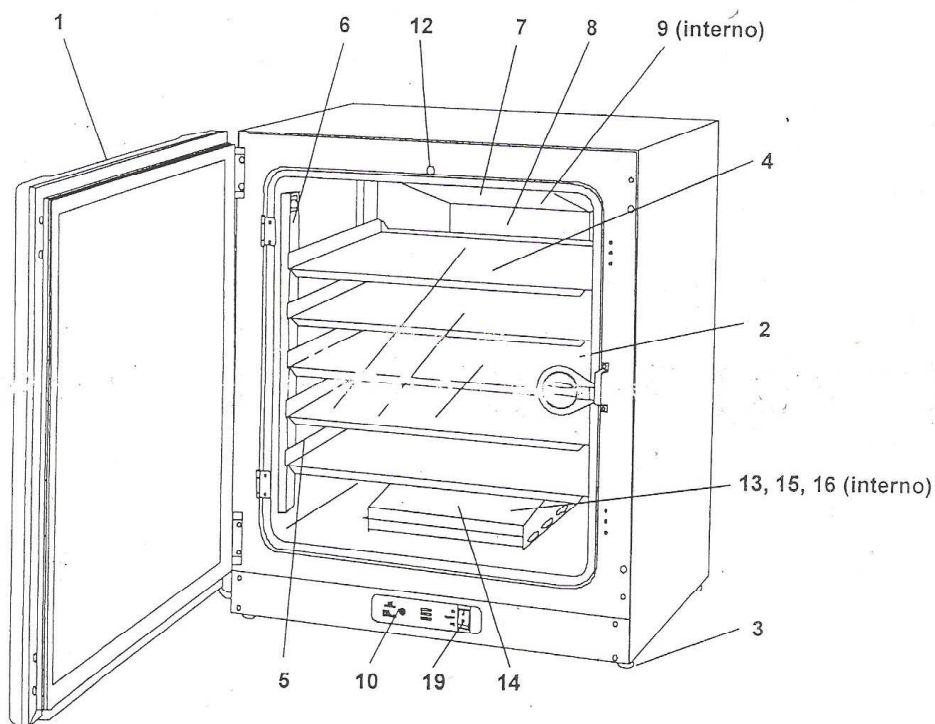
OQ-PQ)

Verificare il corretto funzionamento degli allarmi simulando le diverse situazioni critiche: innalzando la temperatura all'interno dell' incubatore, inserendo ad esempio alcuni campioni umidi; allarme CO_2 ; allarme porta aperta; prova di ripristini, staccando la corrente e controllando anche il tempo di ripristino dell'apparecchio.

Verificare che tutti i componenti dell'allarme funzionino correttamente: le spie, il display, il buzzer.

Controllare l'uniformità della distribuzione della temperatura, dell'umidità e della CO_2, utilizzando ad esempio delle sonde (certificate SIT) posizionate all'interno dell'apparecchio, almeno tre sonde posizionate in alto, nel mezzo e in basso.

Effettuare le prove in assenza di carico e successivamente in condizioni di ordinaria operatività, prestando attenzione a rispettare le richieste per evitare la contaminazione che potrebbe compromettere la buona verifica dei risultati (riporre le provette ad una distanza sufficiente per evitare la crescita di microorganismi, chiudere con cautela la porta per evitare fuoriuscite dalle provette) e le richieste per il buon utilizzo dell'apparecchio (materiali non troppo umidi,..) e verificare che i parametri registrati in assenza e in presenza di carico rispettino la massima variazione della temperatura e della CO_2.

Immagine da manuale dell'incubatore

1.Porta esterna

2.Porta interna

3.Piedini livellanti

4.Ripiano

5. Supporto ripiani

6.Supporti laterali ripiani

7.Condotto aria superiore

8.Condotto aria poateriore

9.Ventola

10.Porta per campionamento

11.Collegamento a CO_2

12.Interruttore porta

13.Bacinella di umidificazione

14.Coperchio bacinella di umidificazione

15.Lampada UV

16.Sensore livello acqua per bacinella umidificazione

Esempi di materiale

CABINA DI SICUREZZA CLASSE 2 a MICROPROCESSORE

<u>Modello:</u> VBH 48 C2

<u>Numero di serie:</u> 19882

<u>Ditta produttrice:</u> Steril

IQ)

Alimentazione elettrica

Classificazione elettrica: classe 1 con cordone di alimentazione

Tensione: 230 V monofase

Frequenza: 50 Hz

Fluidi di servizio

Pressione massima/aria/azoto/CO_2 compressa 4 bar

Pressione massima gas per bruciatore bunsen 20 bar

Calore massimo trasmesso all'ambiente 400 kcal/h

Specifiche

Dimensioni area di lavoro sicura: 1168x500x685 mm [LxDxH]

Peso netto: 230kg

Condizioni di trasporto e imballaggio

Temperatura ambiente: min -15/ max 50

Umidità relativa: max 90 %

Pressione atmosferica: min 800/max 1060 mbar

Accessori della cabina:

Tavolo di supporto

Cassettiera

Bunsen

Bunsen con pedale

La cabina VBH Compact è una cabina di sicurezza biologica di classe 2 a parziale ricircolo d'aria filtrata (70% del volume dell'aria totale) ed a parziale espulsione d'aria filtrata all'esterno.

La sicurezza del prodotto è garantita dal flusso d'aria laminare.L'aria attraverso un filtro assoluto HEPA si muove perpendicolarmente al piano di lavoro in modo unidirezionale (in regime laminare) mantenendo sterile e depolarizzata la zona di lavoro. La laminarità del flusso d'aria riduce i rischi di contaminazione crociata, assicura la protezione dell'utilizzatore e dell'ambiente contro i rischi dovuti ad aerosol potenzialmente contaminati durante le operazioni di manipolazione di sostanze o materiali biologicamente attivi ed infetti in lavori di microbiologia e biotecnologia, con l'eccezione di sostanze radioattive, tossiche e corrosive.

L'apparecchio è fornito di manuale d'uso nel quale vengono specificate:

- norme generali di sicurezza;
- procedure per l'installazione, movimentazione e trasporto (ad esempio installato in un luogo esente da correnti d'aria che possano influenzare il regime di aspirazione ed espulsione necessario per il corretto funzionamento della macchina, lontano da griglie dell'impianto di condizionamento e luoghi ove vi sia movimento di persone);
- condizioni di allacciamento dei fluidi di servizio (gas combustibile bunsen, aria compressa, gas inerte, vuoto);
- spiegazione della canalizzazione dell'aria espulsa (l'apparecchio è progettato per eliminare il 30% dell'aria in circolo attraverso il filtro di espulsione);

- funzionamento: avviamento della cabina (tre pulsanti sul pannello “0” spento, “I” ventilazione, “II” UV + servizio), pannello di controllo (spiegazione della scheda elettronica a microprocessore);
- precauzioni di impiego per il lavoro (prima, durante e dopo la lavorazione, ad esempio non sovraccaricare il piano di lavoro, pulizia dell'area di lavoro con disinfettanti non contenenti cloro);
- manutenzione ordinaria e preventiva e norme di sicurezza per la manutenzione;
- pulizia periodica (da effettuare all'inizio ed al termine di ogni giornata lavorativa, è riportata una tabella dove sono riportati le parti della macchina e il mezzo consigliato con cui pulirle);
- tabella dei controlli periodici;
- operazioni per la decontaminazione delle pareti interne della cabina, inclusi i filtri, ventilatori e superficie di lavoro, a mezzo di fumigazione dei vapori di formaldeide.

L'apparecchiatura risulta fornita di uno schermo frontale trasparente, versione basculante, con apertura controbilanciata da pistoni a gas precompresso ubicate all'esterno dell'area di lavoro.

La cabina è illuminata tramite lampada fluorescente che può essere accesa o spenta mediante gli appositi pulsanti nel settore specifico del pannello di controllo.

L'apparecchio è munito di lampada germicida UV montata sul pannello di chiusura frontale (in modo “II” la lampada fluorescente è interbloccata con il funzionamento della lampada UV per prevenire la contemporaneità dell'illuminazione con la radiazione ultravioletta).

Nel sistema elettronico è presente un UV timer quando si imposta la modalità “II”.

L'apparecchio è dotato di un rubinetto di distribuzione di gas combustibile all'interno del box di lavoro. La pressione massima disponibile nel circuito è pari a 20 mbar.

Per prevenire rischi di esplosione e/o incendio, il gas è intercettato da un' elettrovalvola di sicurezza.

La presa elettrica da 4A con coperchio di protezione è situata sulla parete di fondo della zona di lavoro. Per attivarla o disattivarla si utilizzano i pulsanti ON e OFF.

É presente un sistema di allarme, visivo e acustico.

IQ)

Controllare che l'apparecchiatura sia conforme alle norme vigenti, che i filtri HEPA rispettino anch'essi le norme (ad esempio EN 12469, EN 61010-1) riportate nel

manuale; controllare che il tipo di microorganismi e i materiali patogeni manipolati siano classificati dalla DPAG, DHSS, D.L 626/94.

Controllare che il montaggio dell'apparecchio sia come da manuale e controlla visivamente lo stato di tutte le sue componenti e che l'apparecchio poggi su una base solida ed in grado di supportare un carico superiore a 250kg.

Controllare che le condizioni ambientali necessarie per il corretto funzionamento siano rispettate (ad esempio in un luogo esente da correnti d'aria, lontane da griglie dell'impianto di condizionamento e in luoghi ove vi sia movimento di persone..).

Controllare lo stato dei filtri installati, il collegamento del portagomma della cabina alla linea di distribuzione dei fluidi sia in accordo con le norme vigenti e verificare che sia presente un filtro in linea (PTFE 0.20 micron) per evitare ogni possibile fuoriuscita di contaminate e garantire la sterilità dell'ambiente interno.

Controllare visivamente lo stato del cavo di alimentazione e della spina elettrica.

Verificare il corretto funzionamento del pannello di controllo e tutte le spie di controllo.

Controllare il corretto stato del circuito di gas combustibile.

Effettuare DOP e DOS test.*

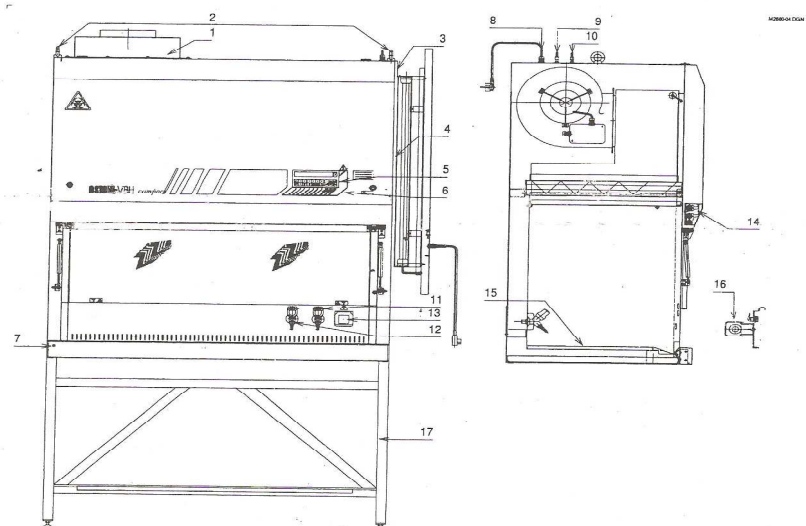
OQ-PQ)

Controllare il corretto funzionamento del sistema di allarme e di tutti i suoi componenti (acustici e visivi); l'allarme interviene quando la portata di espulsione e/o la velocità del flusso laminare oltrepassano le soglie stabilite o quando lo schermo frontale non è in posizione di lavoro.

Verificare il tempo di ripristino dell'apparecchio in seguito alla sospensione della corrente, il ripristino del flusso ottimale dovrebbe avvenire in non oltre 30min.

Controllare la velocità del flusso laminare e controllare la portata di espulsione (barriera di protezione), mediante smoke test.

Effettuare la conta particellare (at rest e in operation, simulando un'attività standard) e confrontare i valori della prova at rest con quelli riportati nel rapporto di collaudo fornito in dotazione alla macchina.

Immagine da manuale della cappa

1.Uscita aria espulsione

2.Golfari

3.Etichetta dati tecnici e numero di serie

4.Presa elettrica laterale per collegamento kit UV

5.Tastiera a membrana

6.Legenda comandi

7.Attacco test DOP-DOS

8.Cavo alimentazione+spina

9.Attacco portagomma VUOTO

10.Attacco portagomma GAS

11.Rubinetto GAS

12.Rubinetto VUOTO

13.Presa elettrica

14.Lampada fluorescente

15.Piano di lavoro

16.Pannellu UV con lampada germicida

17.Tavolo di supporto

Esempi di materiale

CRYO·ON DMSO 100%

Lotto: P09090005

REF: CNR 001-00

Ditta produttrice: AL.CHI.MI.A s.r.l

DQ)

Caratteristiche

Purezza: ≥99.9%

Sterile

Apirogeno

Esente da micoplasmi

Conservazione: temperatura ambientale

Tessuti: pelle, membrane amniotiche, cellule, sangue placentare

Congela al di sotto di 18.3ºC, diventando opalescente.

Prodotto per la crioconservazione di tessuti e cellule umani destinati al trapianto presso la Banche dei Tessuti.

Si presenta in flaconi ambrati per proteggere il prodotto dall'ossidazione e mantenere la sua purezza per tutta la sua vita utile (24 mesi), confezionato in doppia busta sterile.

E´ munito di attestato nel quale è certificato che il prodotto è fabbricato nel rispetto delle norme e standard di qualità applicabili ai dispositivi medici ed è sottoposto ad accurati controlli di qualità (requisiti di purezza testati con tecniche cromatografiche).

E´ munito di istruzioni per il modo d'uso e avvertenze e precauzioni per l'utilizzo.

IQ)

Controllare che rispetti le normative: in quanto dispositivo medico deve rispettare le direttive 93/42/CEE e ISO 13485.

Verificare, visivamente, che la confezione sia integra, altrimenti l'integrità del prodotto è compromessa.

Controllare che i contenitori siano composti di materiali compatibili con il DMSO.

OQ-PQ)

Accertarsi di eseguire tutte le operazioni in condizioni di asepsi.

Preparare la quantità di soluzione necessaria in un contenitore adeguato diluendo il DMSO alla concentrazione desiderata con il medium e/o gli additivi previsti dalla prassi consolidata ed utilizzare immediatamente. Eseguire la procedure per il congelamento.

Controllare che il DMSO non diventi opalescente, in caso riportare il prodotto ad una temperatura superiore a 18.3ºC e attendere che torni liquido.

Immagina da scheda tecnica del prodotto

CAPITOLO 5

Bibliografia

[1] DE 2006/86/CE

[2] Alessandra Bassi, *La convalida di apparecchiature e strumenti*, corso avanzato nazionale di Tissue Banking, **settembre 2009**

[3] Antonio Carniato, *Verifica e taratura della strumentazione*, corso avanzato nazionale di Tissue Banking, **settembre 2009**

[4] Mauro Toniolo, *Valutazione fornitori e approvvigionamento prodotti*, corso avanzato nazionale di Tissue Banking, **settembre 2009**

[5] Fiorenza Barbani, *Eventi e reazioni avversi gravi*, corso avanzato nazionale di Tissue Banking, **settembre 2009**

[6] Claudio Giannarini, Elisa Pianigiani, *Abbigliamento e procedure di vestizione nelle aree a contaminazione controllata*, corso avanzato nazionale di Tissue Banking, **settembre 2009**

[7] Aurora Vassanelli, *Gestione del processo di raccolta, bancaggio e distribuzione di cellule staminale cordonali*, Grida, **2008**

[8] Aurora Vassanelli, *Donazione di sangue di cordone ombelicale: promozione informazione, arruolamento delle donatrici*, IDL-SOP, **2008**

[9] Aurora Vassanelli, *Raccolta, trasporto alla Banca e accettazione di Unità di sangue di cordone ombelicale*, IDL_SOP, **2008**

[10] Aurora Vassanelli, *Lavorazione, identificazione, criopreservazione, validazione e stoccaggio di Unità di sangue di cordone ombelicale*, IDL-SOP, **2008**

[11] Aurora Vassanelli, *Richiesta, assegnazione, consegna e trasporto di Unità di sangue di cordone ombelicale*, IDL-SOP, **2008**

[12] Aurora Vassanelli, controlli di qualità nell'attività della Banca del Sangue di Cordone Ombelicale, IDL-SOP, **2008**

[13] Steril, *Manuale d'uso della cabina di sicurezza Classe2 con sistema di controllo automatico a microprocessore*, **Luglio 2003**

[14] Cryo·on, *Scheda tecnica e certificati allegati*, **Agosto 2009**

[15] Sanyo, *Manuale di istruzioni incubatore a* CO_2

[16] Karl Hecht KG, *Scheda tecnica Counter AC-8*, **2009**

[17] Nalge Nunc International, *Scheda tecnica Nalgene Cryogenic Vials*, **Aprile 2009**

[18] Biosigma, *Scheda tecnica Cryogen Box*, **Gennaio 2009**

[19] Miltenyi Biotec, *Scheda tecnica CryoMACS Freezing Bag 250*, **Novembre 2009**

[20] Gilson, *Scheda tecnica Pipeman® P*,**Novembre 2006**

[21] Motic, *Manuale di istruzioni microscopio invertito*, **2006**

[22] Angelantoni, *Manuale d'uso frigorifero*, **Aprile 2008**